动 物 学 研 究 2006，Apr. 27（2）：189－196 CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853
Zoological Research

草鱼野生和养殖群体间遗传变异的微卫星分析

张志伟[1]，曹哲明[2]，杨 弘[2]，王金龙[1]，曹谨玲[1]，韩曜平[1,3]，吴婷婷[2,*]
（1. 南京农业大学 无锡渔业学院，江苏 无锡 214081；2. 中国水产科学院淡水渔业研究中心，江苏 无锡 214081；
3. 中国科学院昆明动物研究所，云南 昆明 650223）

摘要： 运用微卫星标记对江苏境内草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）一个野生群体（邗江群体）和两个养殖群体（淡水中心群体和无锡前洲群体）遗传多样性进行了分析。在10个座位中，每个座位检测到的等位基因数2～8个。有效等位基因数、多态信息含量、期望杂合度、平均表观杂合度均以邗江草鱼野生群体最高，分别为3.9、0.506 8、0.693 9、0.7；无锡前洲草鱼养殖群体最低，分别为2.2、0.179 6、0.523 5、0.528 6；淡水中心草鱼养殖群体各参数均介于两者之间，分别为3.5、0.290 2、0.541 8、0.542 9。以上结果表明：草鱼野生群体遗传多样性更为丰富，而草鱼养殖群体存在杂合度降低，遗传多样性下降的现象。邗江草鱼野生群体与淡水中心草鱼养殖群体和无锡前洲草鱼养殖群体间遗传分化系数分别为0.219和0.246，而两个草鱼养殖群体间遗传分化系数为0.034。这表明草鱼野生群体与草鱼养殖群体间分化严重，而草鱼养殖群体间分化微弱。各座位分化程度的χ^2检验结果表明，10个座位中有GM18、MFW1-1、MFW1-2三个座位群体间分化达到极显著水平，GM03-2、MFW5两个座位群体间分化差异显著，其他座位分化不显著。针对每个座位对各群体进行Hardy-Weinberg平衡检验发现：由于草鱼养殖群体在GM03-1、GM03-2、GM18三个位点杂合子缺失，草鱼野生群体在位点GM19杂合子过剩而严重偏离平衡。实验表明：近交容易引起草鱼遗传多样性下降，纯合速度加快。

关键词： 草鱼；微卫星；野生群体；养殖群体；遗传变异
中图分类号： Q959.468.03 **文献标识码：** A **文章编号：** 0254－5853（2006）02－0189－08

Microsatellites Analysis on Genetic Variation Between Wild and Cultured Populations of *Ctenopharyngodon idella*

ZHANG Zhi-wei[1], CAO Zhe-ming[2], YANG hong[2], WANG Jin-long[1], CAO Jin-ling[1], HAN Yao-ping[1,3], WU Ting-ting[2,*]
(1. *Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China;*
2. *Freshwater Fisheries Research Center, the Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi 214081, China;*
3. *Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Science, Kunming 650223, China*)

Abstract: Genetic diversity of grass carp was studied by using microsatellite DNA markers, on the wild population from Jiangsu Hanjiang National Four Major Chinese Carps Seed Farm and the cultured populations from Freshwater Fisheries Research Center Aquatic Breeding Farm and Wuxi Qianzhou Aquatic Breeding Farm. The number of alleles generated from each locus ranged from two to eight at the ten assessed loci. The number of effective alleles (a_e), polymorphic information content (*PIC*), expected heterozygosity (*He*) and the average observed heterozygosity (*Ho*) were all the highest in Hanjiang wild population as 3.9, 0.506 8, 0.693 9, 0.7 respectively. Meanwhile Wuxi Qianzhou cultured stock had the lowest value: 2.2, 0.179 6, 0.523 5, 0.528 6 respectively. All these parameters of FFRC population were between the above mentioned data, being: 3.5, 0.290 2, 0.541 8, 0.542 9 respectively. All those results showed that the genetic diversity of wild population was more sufficient than that in the cultured populations. Coefficients of gene differentiation (*Gst*) between Hanjiang wild population and FFRC population, as well as Qianzhou population being 0.219 and 0.246, which were larger than those between the two cultured populations being 0.034. This indicated that the gene differentiated more seriously between wild and cultured populations than those between cultured ones. χ^2 significance test for the relative

* 收稿日期：2005－12－9；接受日期：2006－02－17
基金项目：国家自然科学基因资助项目（30471343）
* 通讯作者（Corresponding author），E-mail：wutt@ffrc.cn
第一作者简介：张志伟（1977－），男，博士研究生，研究方向为水产动物遗传育种与生物技术。E-mail：zhzhwei2005@126.com

magnitude of genetic differentiation (F_{ST}) showed that three loci GM18, MFW1-1, MFW1-2, differentiated most significant among populations; GM03-2, MFW5 significant, others insignificant. Hardy-Weinberg equilibrium was detected for each population over per loci. The results showed that GM03-1, GM03-2, GM18 deviated from the equilibrium in cultured population for heterozyosis deficiency and GM19 in wild ones for heterozyosis excess. According to our study, inbreeding may decrease the genetic diversity and accelerate homozygotes of the offspring.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; Microsatellite; Wild population; Cultured population; Genetic diversity

草鱼（*Ctenopharyngodon idella*）因其具有草食性、生长快、肉质鲜美等特点，成为优良的淡水养殖品种。1958 年，草鱼人工繁殖取得成功，改善了种苗供应不足的状况，很多地方引种后建立了独自的繁殖小群体，但受生产条件和生产规模的限制，生产单位保存的亲鱼数量不多，且大部分选自自繁后代，如此经过多年生殖隔离和多代近交，引起了养殖性状不同程度的退化，如性早熟、成熟个体趋小、抗病力降低等（Liao et al，1994；Liu et al，1997；Yang & Li，1996），草鱼种质退化问题已成为制约草鱼养殖业进一步发展的严重障碍。草鱼种质退化虽然不排除环境胁迫等因素，但近亲交配导致的性状衰退可能更为主要。因此，开展草鱼近亲交配产生机理的研究，对避免近亲交配、保护草鱼遗传多样性、防止种质衰退等都具有重要的理论和现实意义。

有些研究者曾使用同工酶（Wu & Wang，1992）、RAPD（Xue et al，1998；Zhang et al，2001；Zhang et al，2004）、线粒体 DNA（Li et al，1998）、微卫星（Liao et al，2005）等技术对不同地理种群草鱼的遗传特性进行过研究或比较，但有关近交衰退的报道则较少，仅见 Yang & Li（1996）利用同工酶的方法研究长江草鱼原种和来自不同江段人工繁殖草鱼群体生长和生化遗传差异，结果发现草鱼原种杂合度最高，人工繁殖草鱼子一代最低，子三代介于前两者之间。Kohlmann et al（2005）用微卫星标记研究鲤鱼遗传多样性时发现：虽然在不同地理鲤鱼种群间没有检测到差异，但鲤鱼养殖群体与鲤鱼野生群体相比较，检测到的等位基因数明显减少、遗传多样性也明显下降；同样，在大西洋鲑的研究报道（Skaala et al，2004）中，42%的等位基因在大西洋鲑养殖群体中丢失，但杂合度并没有发生明显变化。

本文采用微卫星标记技术，对江苏省内草鱼一个野生群体及亲本来自该野生群体的两个人工养殖群体进行研究，通过比较不同草鱼群体间遗传多样性差异，研究近亲交配、建群者效应等对草鱼杂合度、遗传多样性的影响，从分子水平揭示近亲交配引起其遗传物质的变化，为合理保护和利用草鱼自然种质资源提供科学依据和指导，也为提高草鱼的养殖性状，培育优良品种积累数据。

1 材料和方法

1.1 样品来源

2004 年底，采样的样品均为二龄草鱼，体重：0.52～0.89 kg；体长：34.7～43.2 cm。草鱼野生群体（HJYSP）采自江苏邗江国家级四大家鱼原种场，由 2003 年 5 月长江下游围网捕获的野生草鱼鱼苗养殖至二龄。淡水渔业研究中心试验场的人工养殖群体（FFRCP）为 2003 年 5 月购自国营常熟水产养殖场草鱼鱼苗 5 000 尾养殖而成，而常熟水产养殖场草鱼亲本又来自于 2001 年从邗江四大家鱼原种场购进的 10 斤左右的成鱼 50 组。无锡前洲水产良种场的人工养殖群体（WXQZP）是由 2003 年底从苏北购进的 1 万尾草鱼夏花养殖而成，而苏北养殖场的亲本是 1995 年从邗江四大家鱼原种场购进的成鱼 40 组，1999 年又挑选自繁后代补充亲本 20 组。每个群体随机各取 20 尾，剪取鳍条放入 70%的酒精固定，备用。

1.2 基因组 DNA 提取

取约 0.1 g 鳍条用双蒸水冲洗，用滤纸吸干放入 1.5 mL 的离心管，加入 450 μL STE（150 mmol/L NaCl，50 mmol/L Tris，1 mmol/L EDTA）缓冲液，12.5 μL 的 20% SDS，10 μL 蛋白酶 K（20 mg/mL）混匀，55 ℃消化过夜，用苯酚、氯仿及酚/氯仿各抽提一次，等体积的异丙醇沉淀，12 000 r/min 离心 30 min，沉淀用 70%的乙醇洗 2 次，再用 30 μL 双蒸水溶解，在 0.8%的琼脂糖凝胶上检测 DNA 的质量和浓度。

1.3 SSR 引物序列

参照文献（Yue et al，2004；Crooijmans et al，2004；Liao et al，2005），合成鲤鱼微卫星引物 5 对；参照文献（Sun et al，2005），合成草鱼微卫星引物 3 对，由上海申能博彩生物工程公司合成。引

物序列及 PCR 反应条件见表 1。

1.4 PCR 反应体系及反应程序

反应总体积为 25 μL，包括 PCR Buffer，Mg^{2+} 浓度因引物不同而异（表 1），0.2 mmol/L dNTPs，1.0 μmol/L 引物，Taq 酶 1.0 U，模板约 100 ng。

反应的程序为：首先进行 94 ℃变性 5 min；然后 94 ℃变性 30 s，Tm 复性 45 s，72 ℃延伸 30 s，反应进行 35 个循环；最后 72 ℃延伸 10 min。

1.5 扩增产物的检测

首先，用2 %的琼脂糖电泳、EB染色检测扩增产物的有无及量的多少；然后，酌量用 8% 的非变性聚丙烯酰胺。电压 100 V 电泳 12 h，银染。

表 1 引物的名称、序列及 PCR 反应条件

Tab. 1 Microsatellite loci，their primer sequence and conditions of PCR

座位 Locus	引物序列 Primer sequence（5′－3′）	退火温度 Annealing temperature（℃）	镁离子浓度 Mg^{2+} concentration（mmol/L）
Cca06	F：ttctacaagcatggtttctacagc R：tttgcgtgctaaaatttgtcata	53	1.5
Cca07	F：ccattgcgctgtaatatgaggttt R：cgcttcaacaccaggggactg	55	1.5
Cca12	F：acgcgtccggctgacattagagc R：acaacccccgatccccaacaca	58	1.2
MFW1	F：cagccgctggatcccaactg R：gcagatgcgtagcaatgtaaacc	60	1.5
MFW5	F：gagatgcctggggaagtcac R：aaagagagcggggtaaaggag	57	1.5
GM03	F：tgtatgtttgagtaaccac R：ttgggttctgattctatttc	60	1.5
GM18	F：ggctttctcattccatttgt R：gtgggtttactgaataaggttg	60	1.5
GM19	F：accgccaagtatggtgac R：gcctctcgctattacgc	62	1.2

1.6 数据统计与分析

将电泳谱带中的每一条 DNA 片段作为该座位的一个等位基因来处理，每个座位扩增的等位基因按其迁移率的不同，从大到小依次定义为：1、2、3、…k。统计各群体样本基因型，用 Popgen32 计算各微卫星位点在 3 个群体中的等位基因频率、多态信息含量、杂合度、有效等位基因数、遗传分化系数等指标。

有效等位基因数（Crow & Kimura，1965）：

$a_e = 1/\sum pi^2$，其中 p_i 为第 i 个等位基因的频率。

多态信息含量（Botstein，1980）：

$$PIC = 1 - \sum_{i=1}^{k} p_i^2 - \sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} 2p_i^2 p_j^2$$
$$= 2\sum_{i=1}^{k-1} \sum_{j=i+1}^{k} p_i p_j (1 - p_i p_j)$$

其中：k 为等位基因数目；p_i 和 p_j 分别为第 i 和第 j 个等位基因的频率。

观测杂合度：H_O = 观察到的杂合子数/观察个体总数

期望杂合度（Nei，1972）：$He = 1 - \sum p_i^2$

固定指数（Fixation Index）（Nei，1975）：

$F = (He - H_O) / He$

基因分化系数（Nei，1975）：

$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$

其中：G_{ST} 为基因分化系数；H_T 为总群体平均杂合度；H_S 为各群体内平均杂合度。

2 结果与分析

2.1 微卫星 PCR 扩增结果及等位基因频率

运用微卫星标记对江苏境内分布草鱼一个野生群体和两个养殖群体进行了遗传变异分析，8 对微卫星引物共检测到 10 个微卫星座位，多数引物只有一个扩增座位，但引物 MFW1 和 GM03 各有两个扩增座位（MFW1-1、MFW1-2 和 GM03-1、GM03-2）。部分扩增图谱如图 1，A 为引物 GM18 扩增的电泳结果，该引物只检测到一个位点；而 B 为引物 MFW1 扩增的电泳结果，该引物则检测到两个位点。10 个微卫星座位中每个座位检测到的等位基因数 2～8 个，共检测到 55 个等位基因，其中 21 个为 3 群体所共有，这部分等位基因频率相对较高，是该物种中最原始、最保守的等位基因，在物种的进化过程中起到保持物种繁衍的重要作用。从 3 个群体检测到的等位基因数分别为：50、35、31，与

草鱼野生群体相比，草鱼养殖群体检测到的等位基因数都明显减少，基因座位 GM18 的 7，MFW1-1 的 1、2，GM03-1 的 1、6，GM03-2 的 5，GM19 的 1，MFW5 的 1、5，Cca12 的 1、8 等一些低频率等位基因在养殖群体中丢失。每个座位在不同群体中的等位基因频率见表 2。

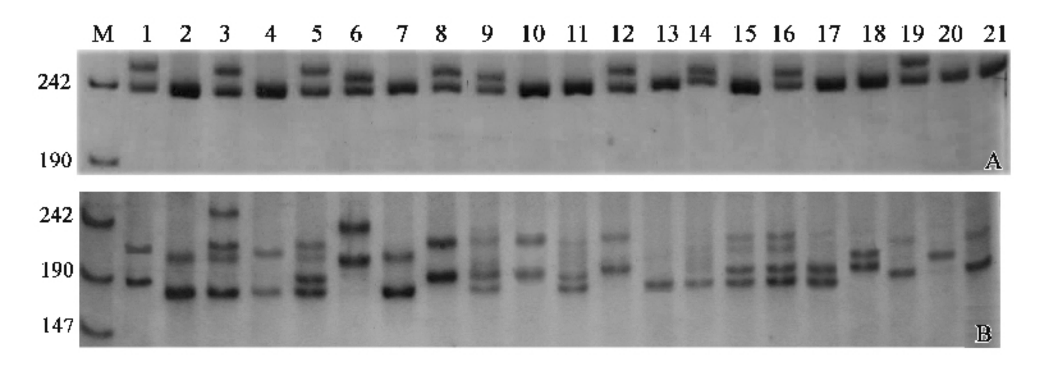


图 1　不同引物对 3 个草鱼群体的扩增图谱（A：GM18；B：MFW1）

Fig. 1　Demonstration of microsatellite locus amplified by different primers in three grass carp populations

M：marker：pUC19 DNA/MspI；1～7：邗江野生群体（Hanjiang wild population）；8～14：淡水中心群体（Freshwater Fishery Research Center population）；15～21：无锡前洲群体（Wuxi Qianzhou population）。

表 2　草鱼自然和养殖群体 10 个微卫星基因座位的等位基因频率

Tab. 2　Allele frequencies of 10 microsatellite loci for natural and cultured stocks in three grass carp populations

座位 Locus	等位基因 Allele	群体 Populations HJYSP	FFRCP	WXQZP	座位 Locus	等位基因 Allele	群体 Populations HJYSP	FFRCP	WXQZP
GM03－1	1	0.071 4	0.000 0	0.000 0	MFW5	1	0.071 4	0.000 0	0.000 0
	2	0.071 4	0.071 4	0.000 0		2	0.357 1	0.071 4	0.071 4
	3	0.142 9	0.357 1	0.000 0		3	0.071 4	0.428 6	0.428 6
	4	0.214 3	0.214 3	0.214 3		4	0.285 7	0.214 3	0.000 0
	5	0.142 9	0.357 1	0.357 1		5	0.142 9	0.000 0	0.000 0
	6	0.071 4	0.000 0	0.000 0		6	0.071 4	0.285 7	0.500 0
	7	0.142 9	0.000 0	0.428 6	Cca07	1	0.000 0	0.071 4	0.142 9
	8	0.142 9	0.000 0	0.000 0		2	0.285 7	0.285 7	0.714 3
GM03－2	1	0.214 3	0.500 0	0.000 0		3	0.071 4	0.071 4	0.000 0
	2	0.285 7	0.142 9	0.142 9		4	0.428 6	0.285 7	0.071 4
	3	0.142 9	0.285 7	0.571 4		5	0.071 4	0.285 7	0.071 4
	4	0.214 3	0.071 4	0.285 7		6	0.142 9	0.000 0	0.000 0
	5	0.142 9	0.000 0	0.000 0	Cca06	1	0.571 4	0.500 0	0.571 4
GM18	1	0.000 0	0.000 0	0.071 4		2	0.428 6	0.500 0	0.428 6
	2	0.000 0	0.142 9	0.071 4	GM19	1	0.071 4	0.142 9	0.000 0
	3	0.214 3	0.071 4	0.000 0		2	0.571 4	0.642 9	0.642 9
	4	0.071 4	0.285 7	0.714 3		3	0.428 6	0.214 3	0.285 7
	5	0.142 9	0.357 1	0.142 9		4	0.000 0	0.000 0	0.071 4
	6	0.428 6	0.142 9	0.000 0	Cca12	1	0.071 4	0.000 0	0.000 0
	7	0.142 9	0.000 0	0.000 0		2	0.071 4	0.071 4	0.000 0
MFW1－1	1	0.071 4	0.000 0	0.000 0		3	0.142 9	0.000 0	0.357 1
	2	0.142 9	0.000 0	0.000 0		4	0.142 9	0.071 4	0.071 4
	3	0.071 4	1.000 0	0.500 0		5	0.285 7	0.071 4	0.357 1
	4	0.428 6	0.000 0	0.500 0		6	0.142 9	0.785 7	0.000 0
	5	0.285 7	0.000 0	0.000 0		7	0.071 4	0.000 0	0.214 3
MFW1－2	1	0.142 9	0.142 9	0.071 4		8	0.071 4	0.000 0	0.000 0
	2	0.000 0	0.642 9	0.142 9					
	3	0.214 3	0.214 3	0.785 7					
	4	0.642 9	0.0000	0.000 0					

HJYSP：邗江野生群体（Hanjiang wild population）；FFRCP：淡水中心群体（Freshwater Fishery Research Center population）；WXQZP：无锡前洲群体（Wuxi Qianzhou population）。

2.2　三个草鱼群体内遗传变异分析

三个群体中，以野生草鱼多态信息含量最高，为0.506 8；前洲草鱼群体最低，为0.179 6；淡水中心草鱼群体介于两者之间，为0.290 2，这表明这些座位在养殖群体中多态性明显下降（表3）。平均杂合度也有同样的趋势，草鱼野生群体与前洲草鱼群体间差异极显著，淡水中心草鱼群体与其他两个草鱼群体间差异不显著（表4），这表明前洲草鱼群体平均杂合度下降更为明显。同时，有效等位基因数也以野生草鱼最高，为3.9，比较接近于实际观察数目5.0。相对而言，在3个群体中以野生草鱼的实际杂合子比例最高，遗传多样性更为丰富。

2.3　三个草鱼群体间遗传分化

由表5可见：邗江草鱼野生群体与两个草鱼养殖群体间基因分化系数分别为0.219和0.246，而两个草鱼养殖群体间的基因分化系数为0.034，表明：草鱼野生群体与两个草鱼养殖群体间存在不同程度的遗传分化，与无锡前洲草鱼养殖群体间遗传分化更为严重，而两个草鱼养殖群体间遗传分化微弱。

针对10个微卫星座位计算群体间总的遗传分

表3　草鱼野生和养殖群体中10个微卫星座位的平均杂合度

Tab. 3　Mean heterozygosity at 10 microsatellite loci assessed for the natural and cultured stocks in three grass carp populations

座位 Locus	群体 Populations	等位基因数 Allele (a)	有效等位基因数 Effective numbers of allele (a_e)	多态信息含量 Polymorphic information content (*PIC*)	固定指数 Fixation index (*F*)	观测杂合度 Observed heterozygosity (*Ho*)	期望杂合度 Expected heterozygosity (*He*)	平均杂合度 Mean heterozygosity
GM03－1	HJYSP	8	7.000 0	0.738 9	0.167 7	0.714 3	0.857 1	
	FFRCP	4	3.266 7	0.424 0	0.382 4	0.428 6	0.731 3	0.802 7
	WXQZP	3	2.800 0	0.259 3	0.777 8	0.142 9	0.642 9	
	HJYSP	5	4.666 7	0.375 2	0.272 7	0.571 4	0.785 7	
GM03－2	FFRCP	4	2.800 0	0.158 3	0.777 8	0.142 9	0.666 7	0.757 4
	WXQZP	3	2.333 3	0.273 2	0.500 0	0.285 7	0.571 4	
	HJYSP	5	3.629 6	0.595 2	0.211 3	0.571 4	0.724 5	
GM18	FFRCP	5	3.920 0	0.696 9	0.232 9	0.571 4	0.642 9	0.773 2
	WXQZP	4	1.849 1	0.463 4	0.377 8	0.285 7	0.459 2	
	HJYSP	5	3.379 3	0.783 6	0.594 2	0.285 7	0.704 1	
MFW1－1	FFRCP	1	1.000 0	0.000 0	0.000 0	0.000 0	0.401 4	0.617 9
	WXQZP	2	2.000 0	0.000 0	0.142 9	0.428 6	0.500 0	
	HJYSP	3	2.085 1	0.237 6	0.725 5	0.142 9	0.520 4	
MFW1－2	FFRCP	3	2.085 1	0.237 6	0.176 5	0.428 6	0.466 0	0.707 5
	WXQZP	3	1.555 6	0.166 9	－0.200 0	0.428 6	0.357 1	
	HJYSP	6	4.083 3	0.445 4	－0.324 3	1.000 0	0.755 1	
MFW5	FFRCP	4	3.161 3	0.396 7	－0.462 7	1.000 0	0.666 7	0.764 2
	WXQZP	3	2.279 1	0.336 8	－0.781 8	1.000 0	0.561 2	
	HJYSP	5	3.379 3	0.238 6	－0.217 4	0.857 1	0.701 4	
Cca07	FFRCP	5	3.920 0	0.569 6	－0.150 7	0.857 1	0.636 1	0.717 7
	WXQZP	4	1.849 1	0.117 1	－0.377 8	0.285 7	0.459 2	
	HJYSP	2	1.960 0	0.000 0	－0.750 0	0.857 1	0.489 8	
Cca06	FFRCP	2	2.000 0	0.000 0	－1.000 0	1.000 0	0.493 2	0.500 0
	WXQZP	2	1.960 0	0.000 0	－0.750 0	0.857 1	0.489 8	
	HJYSP	3	2.279 1	0.336 8	－0.781 8	1.000 0	0.561 2	
GM19	FFRCP	3	2.085 1	0.237 6	－0.372 5	0.714 3	0.527 2	0.544 2
	WXQZP	3	2.000 0	0.039 9	－0.428 6	0.714 3	0.500 0	
	HJYSP	8	6.125 0	0.810 3	－0.195 1	1.000 0	0.857 1	
Cca12	FFRCP	4	1.580 6	0.221 9	－0.222 2	0.285 7	0.836 7	0.713 2
	WXQZP	4	3.266 7	0.049 7	－0.235 3	0.857 1	0.632 7	
全部座位平均值 Mean of all loci	HJYSP	5 ± 2	3.858 7 ± 1.682 1	0.506 8		0.700 0 ± 0.304 5	0.693 9 ± 0.129 0	
	FFRCP	3.5 ± 1.269 7	2.581 9 ± 0.987 2	0.290 2		0.542 9 ± 0.348 6	0.541 8 ± 0.226 7	0.689 8 ± 0.102 1
	WXQZP	3.1 ± 0.737 9	2.189 3 ± 0.507 7	0.179 6		0.528 6 ± 0.301 5	0.523 5 ± 0.097 3	

HJYSP：邗江野生群体（Hanjiang wild population）；FFRCP：淡水中心群体（Freshwater Fishery Research Center population）；WXQZP：无锡前洲群体（Wuxi Qianzhou population）。

化系数为 0.149 9（表 6），表明有 14.99%的遗传变异来自于群体间；85.01%的遗传变异来自于群体内。各座位分化程度的 χ^2 检验结果表明，10 个座位中有 GM18、MFW1-1、MFW1-2 三个座位群体间分化达到极显著水平；GM03-2 、MFW5 两个座位分化达到显著水平；其他座位分化微弱：表明草鱼野生群体和草鱼养殖群体间在不同座位分化程度各异。

表 4 三个草鱼群体杂合度差异的显著性检验（*P* 值）

Tab. 4 *P* value of heterozygosity test of three grass carp populations

群体 Populations	HJYSP	FFRCP	WXQZP
HJYSP	1.000	0.058	0.004
FFRCP	0.058	1.000	0.185
WXQZP	0.004	0.185	1.000

HJYSP：邗江野生群体（Hanjiang wild population）；FFRCP：淡水中心群体（Freshwater Fishery Research Center population）；WXQZP：无锡前洲群体（Wuxi Qianzhou population）。

表 5 三个草鱼群体间的基因分化系数（G_{ST}）

Tab. 5 Genetic distance coefficients between three grass carp populations

群体 Populations	HJYSP	FFRCP	WXQZP
HJYSP	****	0.219	0.246
FFRCP	0.219	****	0.034
WXQZP	0.246	0.034	****

HJYSP：邗江野生群体（Hanjiang wild population）；FFRCP：淡水中心群体（Freshwater Fishery Research Center population）；WXQZP：无锡前洲群体（Wuxi Qianzhou population）。

表 6 10 个微卫星座位在草鱼群体间的遗传分化及显著性检验

Tab. 6 Ralative magnitude of genetic differentiation（F_{ST}）among populations and significance test（χ^2）at 10 microsatellite loci assessed for the natural and cuhured stocks in three grass carp populations

座位 Locus	GM03－1	GM03－2	GM18	MFW1－1	MFW1－2	MFW5	Cca07	Cca06	GM19	Cca12	平均 Mean
F_{ST}	0.089 0	0.119 8	0.168 6	0.350 5	0.341 3	0.127 6	0.113 7	0.013 6	0.031 3	0.112 9	0.149 9
χ^2	22.93	18.15*	28.9*	32.2**	38.1**	22.63*	17.45	0.571	5.397	20.55	

*$P<0.05$；** $P<0.01$（χ^2 significance test for F_{ST}）。

3 讨 论

3.1 微卫星标记的选择

在鲤鱼遗传多样性研究报道（Kohlmann et al，2003；Bartfai et al，2003；Desvignes et al，2001）中，不同研究者同时运用了微卫星、同工酶、mtDNA、RAPD 等标记中的两种或三种，发现微卫星标记检测的遗传变异性明显高于其他标记（Desvignes et al，2001；Kohlmann et al，2005）；同时，由于微卫星标记遵循孟德尔定律呈共显性遗传，在寻找特异性标记、家系分析方面更显现了独到的优势（Bartfai et al，2003）。本研究运用 5 对鲤鱼微卫星引物及 3 对草鱼自身引物对草鱼野生群体及养殖群体遗传多样性进行了比较，8 对引物共检测到 10 个微卫星座位，其中 GM03 和 MFW1 两对引物均产生两个位点，可能由于与这些位点相关的基因在基因组中是多拷贝的（David et al，2003），其他研究（Liao et al，2005）中也发现类似的现象。所有座位在邗江草鱼野生群体中检测到的等位基因数 2～8 个，除 GM19、Cca06、MFW1-2 三个座位的等位基因数较少之外，其余座位均在 5 个以上。多态信息含量范围为：0.237 6～0.810 3（座位 Cca06 除外），依据 Botstein（1980）的划分标准：当 $PIC>0.5$ 时，该位点为高度多态位点；$0.25<PIC<0.5$ 时，为中度多态性位点；$PIC<0.25$ 时，为低度多态位点：故本研究中 GM03-1、GM18、MFW1-1、Cca12 四个位点均为高度多态座位；三个位点属于中度多态性位点，这些说明所选微卫星座位较适合草鱼群体遗传多样性研究。

3.2 草鱼野生和养殖群体内及群体间的遗传分化

本研究发现：草鱼养殖群体平均有 40%的等位基因丢失，期望杂合度平均值也显著低于野生群体。在其他物种的研究中同样发现类似的现象：Hedgecock & Sly（1990）用同工酶电泳的方法，在比较太平洋牡蛎一个野生群体和两个养殖群体的遗传差异时发现：与野生群体相比，其中一个养殖群体在每个位点的等位基因数明显减少；Li et al（2004）用微卫星标记对鲍 3 个养殖群体和 2 个野生群体研究时表明，所有养殖群体的等位基因和平均期望杂合度都显著低于野生群体，等位基因数减少了 76%，他认为养殖群体遗传多样性下降的原因在于养殖群体繁殖亲本数太少，从而导致遗传漂变加剧；Skaala et al（2004）在研究大西洋鲑时，发现 42%的等位基因在养殖群体中丢失，但杂合度并没有发生明显变化，他认为引起养殖群体等位基因丢失的主要原因在于建群者效应。本研究中，依据

杂合度下降公式（Wright，1931）可以计算出两个草鱼养殖群体的有效亲本数量分别为 3.3 个和 2.9 个，由此证实两个养殖群体的确受到了建群者效应的影响，发生了严重的近亲交配。这可能是由以下原因造成的：受生产条件和生产规模的限制，养殖场保存亲本数量较少，有的养殖场自繁后代留做亲本回交或兄妹交现象严重，而同胞间的交配则是最强的近亲繁殖系统；同时由于人工催产劳动强度大，苗种的市场需求不稳定等因素，保种的亲本不一定每次都进行人工繁殖，人工繁殖的亲本很难做到随机交配。由此可见：人工养殖条件下的封闭群体比自然群体更容易发生瓶颈效应和近交衰退现象，从而加速种质的同质化，降低群体的遗传多样性。

固定指数又称为 Hardy-Weinberg 平衡遗传偏离指数，是反应群体在某座位偏离 Hardy-Weinberg 程度的参数。$F>0$，表明某群体在该座位杂合子缺失；相反，当 $F<0$，则表明该群体在该座位杂合子过剩，数值大小则表明缺失或过剩的程度。本研究发现养殖群体在 MFW1-1、GM03-1、GM03-2 三个座位杂合子严重缺失，而野生群体在座位 GM18 则表现为杂合子严重过剩，显著偏离 Hardy-Weinberg 平衡。这些座位可能是基因组中的重组热点，由于近交而使养殖群体在这些座位发生纯合，进而导致杂合度降低。

基因分化系数是表征群体间遗传分化程度的重要参数，当该参数在 0～0.05 时，群体间遗传分化较弱；在 0.05～0.15 时，遗传分化中等；0.15～0.25 时，遗传分化较大；当大于 0.25 时，表示群体间分化极大。本研究中邗江草鱼野生群体与两个人工草鱼养殖群体间基因分化系数分别为 0.219、0.246，而两个草鱼养殖群体间基因分化系数为 0.034。这表明草鱼野生群体与草鱼人工养殖群体间遗传分化较大，而两个人工草鱼养殖群体间分化微弱。由此可见：与野生群体相比，人工草鱼养殖群体的遗传结构已经发生了改变。对于草鱼养殖群体而言，当环境情况改变时，现存的基因型可能并不适于生存，但一个可塑的群体可以通过重组以致产生新的更加适宜的类型来适应环境；另外，近交及瓶颈效应也容易引起养殖群体遗传结构的改变。本研究中两个草鱼养殖群体的亲本均来自原种场，但由于亲本数量较少，发生近交及瓶颈效应的可能性更大。而两个养殖群体间分化微弱，可能是由于在相似的人工饲养环境下，选择压力相近造成的。

Allendorf & Phelp（1980）认为随机遗传漂变伴随着瓶颈效应，选择和近交可能是养殖群体遗传多样性下降的原因。从遗传学的角度来讲，遗传瓶颈的发生首先表现为等位基因，尤其是稀有等位基因的消失，随着“瓶颈”的加剧就会表现出平均杂合度的降低，继而会造成物种生长速度和抗病力的下降。通过本研究发现：与草鱼野生群体相比，养殖群体在 MFW1-1、GM03-1、GM03-2、GM18 座位发生纯合；GM18、MFW1-1、MFW1-2 等一些座位群体间遗传分化显著，下一步可以针对遗传分化差异显著的座位与性状间进行相关研究。

致谢：中国水产科学研究院淡水渔业研究中心鱼病室周群兰在数据处理上给予帮助，生物技术室俞菊华博士给予热心指导，谨此表示感谢。

参考文献：

Allendorf FW，Phelps SR. 1980. Loss of genetic variation in a hatchery stock of cutthroat trout［J］. *Trans Am Fish Soc*，**109**：537－543.

Bartfai R，Egedi S，Yue GH，Kovacs B，Urbanyi B，Tamas G，Horvath L，Orban L. 2003. Genetic analysis of two common carp broodstocks by RAPD and microsatellite markers［J］. *Aquaculture*，**219**：157－167.

Botstein D，White RL，Sckolnick M，Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism［J］. *Am J Hum Genetic*，**32**（3）：314－331.

Crooijmans RPMA，VanderPoel JJ，Gorenen MAM，Bierbooms VAF，Komen J. 1997. Microsatellite markers in common carp（*Cyprinus carpio* L.）［J］. *Anim Genet*，**28**：129－134.

Crow AJ，Kimura M. 1965. Evolution in sexual and asexual population［J］. *Am Nat*，**99**：439－450.

David L，Blum S，Feldman MW，Lavi U，Hillel J. 2003. Recent dulication of the common carp genome as revealed by analysis of microsatellite loci［J］. *Mol Biol Evol*，**20**（9）：1425－1434.

Desvignes JF，Laroche J，Durand JD，Bouvet Y. 2001. Genetic variability in reared stocks of common carp（*Cyprinus carpio*）based on allozymes and microsatellites［J］. *Aquaculture*，**194**：291－301.

Hedgecock D，Sly FL. 1990. Genetic drift and effective population sizes of hatchery propagated stocks of the Pacific oyster（*Crassostrea gigas*）［J］. *Aquaculture*，**88**：21－38.

Kohlmann K，Gross R，Murakaeva A，Kersten P. 2003. Genetic variability and stucture of common carp（*Cyprinus carpio*）population throughout the distribution rang inferred from allozyme，microsatellite and mitochondrial DNA markers［J］. *Aquat Liv Resour*，**16**：421－431.

Kohlmann K，Kersten P，Flajshans M. 2005. Microsatellite-based genetic variability and differentiation of domesticated，wild and feral common carp（*Cyprinus carpio* L.）populations［J］. *Aquaculture*，**247**：253－266.

Li Q, Park C, Endo T, Kijima A. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) [J]. *Aquaculture*, **235**: 207 – 222.

Li SF, Lu GQ, Bernatchez L. 1998. Diversity of mitochondrial DNA in the populations of silver carp, bighead carp, grass carp and black carp in the middle and lower reaches of the Yangtze River [J]. *Acta Zoo1 Sin*, **44** (1): 82 – 93. [李思发, 吕国庆, 贝纳切兹. 1998. 长江中下游鲢鳙草青四大家鱼线粒体 DNA 多样性分析. 动物学报, **44** (1): 82 – 93.]

Liao XL, Yu XM, Tan DQ, Tong JG. 2005. Microsatellite DNA analysis of genetic diversity of grass carp in Yangtze River system [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, **29** (2): 113 – 118. [廖小林, 俞小牧, 谭德清, 童金苟. 2005. 长江水系草鱼遗传多样性的微卫星 DNA 分析. 水生生物学报, **29** (2): 113 – 118.]

Liao YM, Liu JL, Tang XL. 1994. Analysis on the degeneration of the four major Chinese carps and advising on the protection of the germplasm resources [J]. *Fisher Sci Technol Inform*, **21** (2): 62 – 63. [廖亚明, 刘金炉, 汤学林. 1994. 浅析“四大家鱼”性状退化的原因及重视种质保护的建议. 水产科技情报, **21** (2): 62 – 63.]

Liu SP, Qiu SL, Chen DQ, Huang MG. 1997. Protection and rational utilization of the germplasm resources of the four major Chinese carps in the Yangtze River system [J]. *Resour Envir Yangtze Valley*, **6** (2): 127 – 131. [刘绍平, 邱顺林, 陈大庆, 黄木桂. 1997. 长江四大家鱼种质资源保护与利用. 长江流域资源和环境, **6** (2): 127 – 131.]

Nei M. 1972. Genetic distance between populations [J]. *Am Nat*, **l06**: 283 – 292.

Nei M. 1975. Molecular Population Genetics and Evolution [M]. Amsterdam: North-Holland Publishing Company.

Skaala O, Hbyheim B, Glover K, Dahle G. 2004. Microsatellite analysis in domesticated and wild Atlantic salmon (*Salmo salar* L.): Allelic diversity and identification of individuals [J]. *Aquaculture*, **240**: 131 – 143.

Sun XW, Lu CY, Liang LQ. 2005. Isolation of microsatellite with enrichment by magnetic beads in grass carp *Ctenopharyngodon idella* [J]. *J Fish China*, **29** (4): 482 – 486. [孙效文, 鲁翠云, 梁利群. 2005. 磁珠富集法分离草鱼微卫星分子标记. 水产学报, **29** (4): 482 – 486.]

Wright S. 1931. Evolution in Mendelian populations [J]. *Genetics*, **16**: 97 – 159.

Wu LZ, Wang ZX. 1992. Biochemical genetic structure and variation in a natural population of grass carp from the middle reaches of the Yangtze River [J]. *Acta Genet Sin*, **19** (3): 221 – 227. [吴力钊, 王祖熊. 1992. 长江中游草鱼天然种群的生化遗传结构及变异. 遗传学报, **19** (3): 221 – 227.]

Xue GX, Liu J, Liu J. 1998. RAPD analysis of grass carp population in Three-river waters [J]. *J Fish Sci China*, **5** (1): 1 – 5. [薛国雄, 刘 棘, 刘 洁. 1998. 三江水系草鱼 RAPD 分析. 中国水产科学, **5** (1): 1 – 5.]

Yang XM, Li SF. 1996. Growth differences and biochemical genetic changes between wild stock and hatchery populations of silver carp and grass carp from Yangtze River [J]. *J Fish Sci China*, **3** (4): 1 – 10. [杨学明, 李思发. 1996. 长江鲢、草鱼原种——人工繁群体生长差异与生化遗传变化. 中国水产科学, **3** (4): 1 – 10.]

Yue GH, Ho MY, Laszlo Orban, Johannes Komen. 2004. Microastellites within genes and ESTs of common carp and their applicability in silver crucian carp [J]. *Aquaculture*, **234**: 85 – 98.

Zhang DC, Yu LN, Fang YL. 2004. Genetic diversity analysis on wild and cultured population of grass carp [J]. *Freshw Fish*, **34** (4): 5 – 7. [张德春, 余来宁, 方耀林. 2004. 草鱼自然群体和人工繁殖群体遗传多样性的研究. 淡水渔业, **34** (4): 5 – 7.]

Zhang SM, Deng H, Wang DQ. 2001. Population structure and genentic biodiversity of silver carp and grass carp from populations of Yangtze River Systems revealed by RAPD [J]. *Acta Hydrobil Sinica*, **25** (4): 324 – 330. [张四明, 邓 怀, 汪登强. 2001. 长江水系鲢草鱼遗传结构及变异性的 RAPD 研究. 水生生物学报, **25** (4): 324 – 330.]

本期封面介绍——大杓鹬

大杓鹬（*Numenius madagascariensis*），又名红腰杓鹬。全长约 59 cm。嘴特别长而下弯。雌雄同色。上体淡褐色，有黑褐色纵斑。下背及尾褐色，下体皮黄。腰至尾羽白色，尾羽有黑褐色横斑。颊、颈、胸淡黄褐色，具有细褐色纵纹。虹膜褐色；嘴黑色，嘴基粉红；脚灰色。

音调平缓，如 coor-ee。不安时，发出刺耳的 ker ker-ke-ker-ee 声。多单独活动，有时与其他种类混群。性机警、甚羞怯。活动时不停左顾右盼。常以嘴插入泥中觅食。喜欢吃甲壳类、软件动物、蠕虫、昆虫、小鱼和蛙类。5 ~ 7 月，在俄罗斯的远东地区和我国黑龙江等地繁殖。在水域附近草地上营巢，每窝产卵 4 枚。在河口、河岸、沼泽地、沿海滩涂、沿海草地和水稻田中生活。

为“东亚—澳大利亚”长途迁徙鸟类，迁徙时经过中国东部广大地区，数量不多。被列入《中澳候鸟保护协定》和《中日候鸟保护协定》名录，全球性近危。

在“2004—2005 年冬春季上海崇明东滩堤内鱼塘 – 芦苇区鸟类调查结果”中列有该鸟，其数量冬季为 24 只，春季为 1 只（葛振鸣等，2006；本期发表论文）。

文/葛振鸣，王天厚

图/葛振鸣，王天厚

（华东师范大学 生命科学学院 上海市城市化生态过程与生态恢复重点实验室，上海 200062）